云 南 植 物 研 究 8（2）：147—152，1986
Acta Botanica Yunnanica

云南野山茶与金花茶杂交有性过程的观察

梁汉兴　张赞英　张香兰

（中国科学院昆明植物研究所）

摘要　作者对云南野山茶与金花茶种间杂交的有性过程进行了观察，得到如下结果：

1.金花茶花粉粒在野山茶柱头上于授粉后4小时开始萌发。花粉管在花柱中的伸长基本正常。

2.双受精于授粉25—30天前后发生。杂种幼胚及胚乳早期的发育较为正常，授粉后第85天杂种胚与对照相比较，在胚的分化程度和胚乳的发育方面都未见明显差异，所观察到的胚有70％以上进入了鱼雷期。

3.授粉第90天以后，幼胚胚芽开始分化，自交胚生长发育极为迅速，而杂种胚在生长和分化方面都显著地迟缓下来。这可能是杂种胚与母体组织遗传和生理上的某些不协调所致。因此适时地进行杂种幼胚的离体培养，对育种工作是十分必要的。

关键词　云南野山茶；金花茶；种间杂交

在茶花杂交育种中，花形、花色的多样性均为重要的育种目标。我国特产金花茶一直是极受重视的育种材料。云南山茶与金花茶种间杂交所获得的种子发育不良，成苗率不高，因此对杂种胚进行人工培养的工作正在开展。对云南山茶与金花茶有性杂交胚胎学过程的了解，是进行茶花育种，尤其是杂种胚培养所必须的依据。本工作对云南野山茶与金花茶种间杂交的有性过程进行了观察。现将研究结果报道如下。

材料和方法

研究材料系以云南野山茶（*Camellia pitardii* Cohen-stuart var. *yunnanensis* Sealy）为母本，金花茶（*Camellia chrysantha* (Hu) Tuyama）为父本。将刚开绽的金花茶花蕾取下，除去部份花瓣置培养皿中保持干燥，待花药开裂时取其花粉粒进行人工萌发试验，在蔗糖培养基上花粉发芽率在75—90％之间。选择开花前1—2天的云南野山茶花蕾，于授粉前一天去雄并套袋隔离。人工授粉从1983年2月18日至3月8日共

本文于1984年5月2日收到。

本文承王伏雄先生审阅并提出宝贵意见，谨此致谢。

进行八次。授粉时在一部份去雄的野山茶花雌蕊柱头上授以金花茶花粉，另一部份花朵则授以野山茶新鲜花粉作为对照。授粉后每朵花均套袋挂牌，写明母本、父本及授粉日期，记录授粉时的气温等。先后在5个小区内共作杂交507朵花，自交490朵花。

杂交和自交的花朵分别于授粉后1/4、1/2、1、2、3、4、5、8、10、12、24、48、99小时，6、8、9、10、11、13、15、20、25、30、40、55、70、85、91、130天共取样29次。每次各取花10朵，除去花瓣、雄蕊，留下带柱头的子房固定于FAA中。较大的子房将壁切去一部份或将胚珠剥出后再行固定。

为观察花粉粒在柱头上萌发及花粉管在花柱中的伸长，采用离析后压片，然后诱导胼胝质荧光的方法，在荧光显微镜下观察和测量花粉管的长度。为研究受精前后的胚囊及受精后胚胎及胚乳的发育，采用一般石蜡切片法，切片厚10—12微米，PAS-苏木精-桔红G染色。在OLYMPUS显微镜下观察照相。

观 察 结 果

1. 花粉粒及胚囊的结构

金花茶及云南野山茶的花粉粒均为二细胞型，精子在萌发的花粉管中形成。

云南野山茶成熟胚囊珠孔端的卵器由一个卵细胞和两个助细胞构成。卵细胞和助细胞的形态、大小都比较相近。在正切的胚囊中卵细胞的位置处于卵器中央，二助细胞呈左右排列，但常常不在一个水平上。PAS反应时可见助细胞之一的细胞核周围常具有明显的多糖颗粒。上、下极核在受精前融合成一个次生核，处于卵细胞上方。次生核周围的细胞质中有时也能看见多糖分布。胚囊合点端常具有3个游离的反足核，有时只能看到两个，它们周围也有多糖颗粒存在。

2. 金花茶和云南野山茶花粉粒在野山茶柱头上的萌发及花粉管在花柱中的伸长

云南野山茶柱头三裂，每一裂瓣顶端县有密集的乳突状腺毛。柱头下面是中空的花柱道，整个花柱道的内壁细胞特化为腺毛，具有引导花粉管进入子房以及提供花粉管营养物质的作用。

在荧光显微镜下观察。野山茶自交时，花粉粒到达柱头2小时即开始萌发，花粉管从萌发孔伸出。杂交时，金花茶的花粉粒在野山茶柱头上萌发较迟，但于授粉后4小时也开始萌发（图版Ⅰ，1）。野山茶花粉管通过花柱全长，最快的约需96小时，即授粉在第四天花粉管开始进入子房。而金花茶的花粉管在野山茶花柱中生长稍慢，96小时最快的约达到花柱全长的3/4，估计要第五天才能进入子房（图1）。

总的看来，金花茶花粉粒在野山茶柱头上与自交花粉一样能够正常萌发，仅比对照延迟2小时左右，其萌发率的高低主要取决于花粉的质量以及柱头的成熟程度。野山茶个别柱头偏嫩，影响花粉粒的萌发。金花茶的花粉管在野山茶开放型的花柱中的伸长也未发现异常。仅比对照约延迟一天进入子房。

3. 幼胚及胚乳的发育

授粉后15—20天杂交及对照的胚囊中均未见合子及胚乳的发育。授粉后第25天的切片中见到了合子以及初生胚乳核最初几次分裂所形成的少数几个游离核（图版Ⅰ，2）。

但是同一子房内相邻的胚珠中，胚囊尚未受精。因此野山茶自交和杂交受精的时间大约是在授粉后25—30天前后。受精后合子有一个较长的"休眠期"，而初生胚乳核则先行发育。初生胚乳核一开始形成游离核，不久，在游离核间即形成细胞壁。随着胚囊体积的增大胚乳细胞的数量也不断增加。合子在授粉第50天以后才陆续进行分裂，形成2细胞原胚。这个过程进行得比较慢，第70天的切片中发育得比较快的可以形成十多个细胞的球形胚，而少数还停留在2细胞阶段（图版Ⅰ，3、4）。这个时期的胚乳组织还在继续发育。授粉后70到90天是幼胚的子叶分化期。第85天的切片中看到了从球形、心形至鱼雷形各阶段的幼胚，无论是自交还是杂交，大多数的胚都进入了鱼雷期，它们的发育程度也大致相同。这个时期的胚乳，随胚的发育情况而有所不同。一般鱼雷胚期的胚乳组织中尚贮有一定的供胚发育的营养物质（图版Ⅰ，5）。90天以后，自交和杂交胚的发育速度开始出现愈来愈明显的差异。到授粉后130天，自交和杂交的幼果和胚殊的大小十分悬殊，内部的胚胎在生长发育上差异更大。从表1和表2可看出，授粉第85天，自交胚有73%处于鱼雷期，杂交有75%处于鱼雷期，其余的处于心形和球形期。但是到了授粉后第130天，自交胚有78%已进入胚芽分化期（图版Ⅰ，7），而杂种胚仅有50%开始分化出真叶，一半左右还停留在鱼雷胚后期。在胚的大小方面，差异尤为明显，第85天的自交胚与杂种胚大小相差不多，然而第130天时，自交的胚的子叶已经相当肥厚，体积远远超过杂种胚。平均胚长为杂交的3倍左右，胚宽为杂种胚的近6倍（表2，图2）。

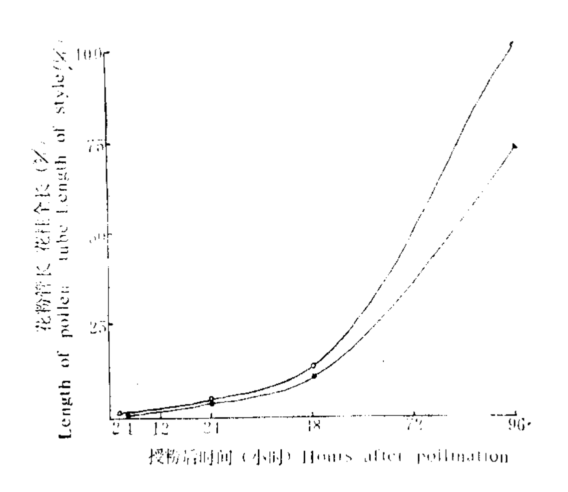


图1. 云南野山茶（o—o—o）和金花茶（•—•—•）花粉管在云南野山茶花柱中的伸长

Fig. 1. Growth of the pollen tube (*C. chrysaniha* •—•—•, *C. pitardii* var. *yunnanensis* o—o—o) in the style of *C. pitardii* var. *yunnanensis*.

表1. 授粉后第85天和130天杂种胚和自交胚在分化程度上的比较

Table 1. The comparison of embryo differentiation between the cross and control on the 85th day 130th day after pollination.

		球形胚期 spperical stage		心形胚期 heart stage		鱼雷胚期 torpedo stage		胚芽分化期 plumule diffrentiation	
		No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
the 85th day	杂交 cross	1	8.5	2	16.5	8	75	/	/
	对照 control	2	13.5	2	13.5	12	73	/	/
the 130th day	杂交 cross	/	/	/	/	3	50	3	50
	对照 control	/	/	/	/	2	22	7	78

表2. 授粉后第85天和130天杂种胚和自交胚胚体大小的比较

Table 2. The comparison of embryo size between the cross and control on the 85th day and 130th day after pollination.

		胚长(μm) length (μm)	胚宽 (μm) wide (μm)
the 85th day	杂交 cross	710	410
	对照 control	730	370
the 130th day	杂交 cross	3050	1680
	对照 control	10470	9440

授粉后130天的胚囊内，除个别发育特别迟缓的以外，自交、杂交的胚乳组织都已几乎全部耗尽，仅留下一些细胞壁的残迹（图版Ⅰ，6）。

上述观察结果表明，杂种胚生长发育停滞主要是发生在胚芽分化期（亦即胚成长期），时间在授粉90天以后，130天的切片材料中表现得十分清楚。少数杂种胚已经败育，子叶中还出现不正常的淀粉积累（图版Ⅰ，8）。

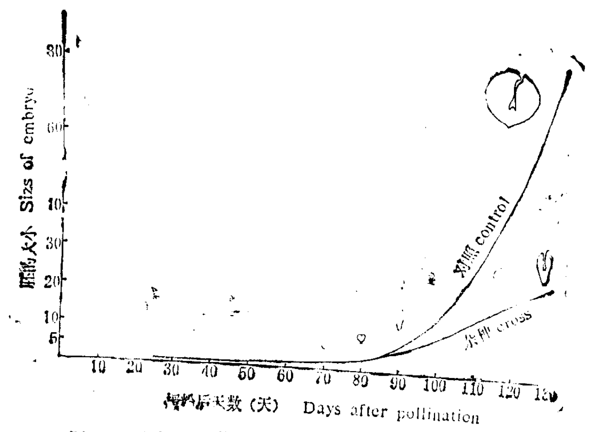


图2. 云南野山茶与金花茶杂交及对照幼胚发育动态示意图

Fig. 2. The comparison of embryo development between cross and control.

讨 论

金花茶花粉粒在云南野山茶柱头上的萌发及花粉管在花柱中的伸长基本正常。双受精正常发生。杂种幼胚的早期发育（从合子至球形胚再至子叶分化）比较正常，这在茶属远缘杂交中还是比较难得的。杂种胚乳与自交胚乳一样，虽然不发达，但它们还是一直保留到鱼雷形胚后期才逐渐消失的。一般在胚芽开始分化以后，胚乳即被耗尽。在胚乳发育上，杂交与对照之间无明显差异。胚芽开始分化以后，杂种幼胚的生长发育才显著迟缓下来，这些胚在自然条件下不可能进一步发育形成健全种子。

关于杂种胚败育及发育停滞的原因一般认为主要是由于杂种胚乳早期败育导致了胚的败育，常发生在合子至球形胚的较早时期；此外杂种胚与胚乳之间生理不协调也常常使胚不能正常分化而夭亡[1、2、3]。云南野山茶与金花杂交时，杂种胚在分化后期出现发育停滞，生长缓慢，其原因可能是杂种胚与母体组织之间在遗传和生理上的差异所造成。因此在此之前对杂种胚进行离体培养，通过人工的调节，保证其正常发育所需求的各种条件得到满足，从而继续发育，形成健康的幼苗，这对于杂交育种工作的意义是不

言而喻的。离体培养的时间，就云南野山茶与金花茶杂交这一组合而言，可以提前到授粉后90天至100天前后进行。

参 考 文 献

〔1〕 胡适宜，1965：植物学报，13（4）：314—322。

〔2〕 胡适宜，1983：被子植物胚胎学。人民教育出版社，北京。

〔3〕 Raghavn, V. 1976: Experimental Embryogenesis in Vascular Plants. Academic Press, New York.

INVESTIGATION OF THE SEXUAL PROCESS IN INTERSPECIFIC CROSSES BETWEEN CAMELLIA PITARDII VAR. YUNNANENSIS AND C. CHRYSANTHA

Liang Hanxing, Zhang Zanying and Zhang Xianglan

(Kunming Institute of Botany, Academia Sinica)

Abstract An investigation of the sexual process in interspecific crosses between *Camellia pitardii* var. *yunnanensis* and *C. chrysantha* is described in the present work. The results are summsrized as follows:

1. Germination of pollen grains on the stigma in crosses occurs 4 hours after artificial pollination. The growth of pollen tubes in the style is similar to that of control.

2. Fertilization proceeds 25 to 30 days after cross-pollination. In its early stage the development of the embryo and endosperm in crosses is normal. The differentiation of the embryo and the development of the endosperm 85 days after pollination are not distinctly different from controls. Of the embryos observed, over 70% reach the torpedo stage.

3. During differentiation of the plumule the growth and differentiation of hybrid embryos are retarded, and their growth declines, while in control the size of the embryos increases rapidly, although the endosperm has already disappeared. On the basis of this observation, we believe that the abortion of hybrid embryos is primarily due to the hereditary and physiological disturbances between the hybrid embryo and the female parent. It is necessary to isolate hybrid embryos before the time of plumule differentiation to culture *in vitro*, inorder to bring the embryos up as healthy seedlings.

Key wordes *Camellia pitardii* var. *yunnanensis*; *Camellia chrysantha*; Interspecific crosses

Explenation of plate

Fig. 1. Germination of the pollen grain of *C. chrysantha* on tne stigma of *C. pitadii* var. *yunnanensis*. ×200 Fig. 2. The initial divisions of endosperm nuclei in the ovule 25 day after cross pollination. ×150 Fig. 3. 2-cells embryo in the ovule 70 day after cross pollination, at this time the endosperm nuclei already separated by wall. ×150 Fig. 4. The spherical embryo and andosperm in ovule 70 day after cross pollination. ×68 Fig. 5. The torpedo embryo and endosperm in ovule 85 day after cross pollination. ×26 Fig. 6. In the embryo on 130 day after cross pollination the plumule is already differentiation between the two cotyledons, while the endosperm has been completely disappeared. ×26 Fig. 7. The plumule of control embryo 130 day after pollination. ×100 Fig. 8. The degenerative embryo on 130 day after cross pollination. ×26